



TITLE:

B-43 サルの匂いに対する先天的な恐怖反応の解析

AUTHOR(S):

小早川, 令子; 小早川, 高; 伊早坂, 智子; 辻, 光義

CITATION:

小早川, 令子 ...[et al]. B-43 サルの匂いに対する先天的な恐怖反応の解析. 霊長類研究所年報 2012, 42: 111-112

ISSUE DATE:

2012-10-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/171548>

RIGHT:

本研究は、既にチンパンジーで実績のあるトラックボールをもとに、力触覚の提示が可能な装置を開発し、これを用いてチンパンジーによる認知実験を行うことを目的とした。特に力触覚の弁別や協調作業について比較認知科学の観点から考察する。今年度は力触覚の弁別実験の遂行のための訓練を開始した。はじめに、トラックボールを通じて操作する画面上のカーソルを、静止するターゲットに合わせるタスクを行った。なお、トラックボールの操作においては、力覚フィードバックが提示されている。現在は、次のステップとして、カーソルを動くターゲットに合わせ、追従する実験を行っている。なお、これまでに6名のチンパンジーが、この力覚フィードバック付きトラックボールを用いてカーソルをターゲットに合わせることができた。最終的には、弁別実験を拡張し、力触覚を含む作業の遂行や二個体のチンパンジーの協調作業についての実験を行う予定である。

B-40 マダガスカル産稀少原猿類の遺伝的管理法の確立

宗近功 ((財)進化生物学研究所) 所内対応者: 田中洋之

マダガスカル産原猿のなかでも、特に絶滅が危惧されている *Eulemur macaco* と *Varecia rubra* を対象として遺伝子マーカーを使った血統管理法を確立するため、国内で飼育されている個体群 (*Varecia rubra* 14 個体、*Varecia v. variegata* 5 個体、*Varecia spp* 3 個体、*Eulemur macaco* 50 個体) から口内細胞を採取し、DNA サンプルを調整した。これまでの共同利用研究で確立した microsatellite 遺伝子座位について Multiplex 法で分析を行った。また、新しく遺伝的管理に使える遺伝子座を求めて、*Varecia rubra* において 51HDZ247、598、646、833、985 遺伝子座を増幅するプライマーを試みたところ、833 の増幅が不安定であったが、247、598、646、998 の4 遺伝子座位に多型がみられ、有効である事が判明した。*Varecia* では、*Eulemur fulvus* 用に開発された Eft09 と *Eulemur mongoza* 用に開発された Em9 の2つのプライマーが有効である事が判明した。分析の結果、*Varecia rubra* の飼育個体群に、父親が間違っただけで登録されている個体が明らかになり、このような結果から、血統登録に遺伝子マーカーを使う管理法の必要性を痛感した。

B-41 霊長類の光感覚システムに関わるタンパク質の解析

小島大輔, 森卓, 鳥居雅樹 (東京大・院理・生物化学) 所内対応者: 今井啓雄

脊椎動物において、視物質とは似て非なる光受容蛋白質 (非視覚型オプシン) が数多く同定されている。私共は最近、非視覚型オプシンの一つ OPN5 がマウスの網膜高次ニューロンや網膜外組織 (脳や外耳) に発現すること、さらにマウスやヒトの OPN5 が UV 感受性の光受容蛋白質であることを見出した。[Kojima et al. (2011) PLoS ONE, 6, e26388] このことから、従来 UV 感覚がないとされていた霊長類にも、UV 感受性の光シグナル経路が存在することが示唆された。そこで本研究では、OPN5 を介した光受容が霊長類においてどのような生理的役割を担うのかを推定するため、霊長類における OPN5 の発現部位の同定を試みている。これまでに、放血もしくは灌流固定したサル個体の組織 (眼球・外耳など) より固定標本を作製した。このうち、眼球より作製した組織切片に対してマウス OPN5 抗体を反応させたところ、一部の細胞に陽性シグナルが検出されたが、マウス眼球の場合とは異なる組織内局在を示した。一方このマウス OPN5 抗体は、ヒト胚由来の培養細胞 (HEK293) に内在する非 OPN5 タンパク質に対しても、強い交差反応を示すことがわかった。この抗体を用いた OPN5 発現細胞の同定は霊長類試料においては困難であると考えられるため、新たな OPN5 抗体の作製と、mRNA レベルでの発現解析を検討している。

B-42 日本で野生化したタイワンザルと台湾在来種の比較研究

蘇秀慧 (台湾国立屏東科技大学・野生動物保育研究所) 佐伯真美 (野生動物保護管理事務所) 所内対応者: 川本芳

台湾から輸出され、日本で野生化したタイワンザル (*Macaca cyclopis*) は、青森県野辺地と和歌山県大池で在来種のニホンザルと交雑したことが確認されている。また、東京都伊豆大島ではニホンザルのいない環境で野生化したタイワンザルが全島に分布することが報告されている。日本で野生化したタイワンザルと台湾在来種のタイワンザルの生物学的特徴を比べることを目的に、今年度の研究では、まず出自の問題を調べるため、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の配列を解読し、遺伝的特徴を解析した。また、伊豆大島を訪れ、環境やサルの分布状況を観察し、台湾との環境の相違を検討する基礎資料を得た。

台湾の4地域 (北部、中部、南西部、南東部) で得た糞試料から DNA を抽出し、mtDNA の非コード領域にある第2可変域の部分配列を解読した。青森、和歌山、伊豆大島のタイワンザルの配列と比較したところ、mtDNA から判断して、日本で野生化したサルはそれぞれ出自が異なり、台湾本島の中部域が和歌山に、南部域 (南東部、南西部) の区別は明瞭にはつかない) が下北と伊豆大島に関係する、との示唆を得た。

対応者が開発した糞 DNA 分析方法は既存のものとは異なる。野外で採取する糞試料の遺伝子分析に効果的な方法が習得できたので、今後さらに別の遺伝標識についても台湾で野生のサルたちを調査する道が開けた。この方法を台湾での調査に今後応用する研究計画を対応者と検討し、日本に持ち込まれたタイワンザルと遺伝的および生態的特徴を比較する計画についても議論した。

B-43 サルの匂いに対する先天的な恐怖反応の解析

小早川令子, 小早川高, 伊早坂智子, 辻光義 (大阪バイオ・神経機能学) 所内対応者: 中村克樹

私たちはマウスに先天的な恐怖反応を誘発する嗅覚神経回路の機能に着目し、既知の匂い分子より強力に先天的な恐怖反応を誘発する人工物由来の匂い分子を発見した。この匂い分子を用いて先天的な恐怖と後天的な恐怖とは異なる生理応答を伴うことを初めて発見した。本計画では、マウスに対して先天的な恐怖反応を誘発する匂い分

子や恐怖を緩和する匂い分子の効果がサルに対しても保存されている可能性を検証することを目的とした。本年度は匂い分子の化学合成とマウスを用いたスクリーニングを進め、先天的な恐怖情動を誘発する匂い分子のレパトリリーを増加させた。匂い分子の効果は動物種によって異なるので、サルに対して最適な匂い分子を発見できる可能性が高くなった。また、匂い分子による先天的な恐怖を緩和する作用のある匂い分子を発見した。これらの匂い分子のサルに対する効果を検証する。先天的と後天的な恐怖に伴う生理指標の変化の解析を進めた。その結果、先天的な恐怖でのみ体表面温度と体深部温度の同時低下や心拍数の急減が誘発されることを解明した。また、先天的な恐怖では脳波などの生理指標にも変化が見られることを解明した。これらの生理指標の中でサルにおいて計測しやすい指標を選択して計測する。

B-44 ネパールヒマラヤにおける霊長類の地域分化に関する研究

ムケシュ K チャリセ (トリブバン大・動物学科) 所内対応者: 川本芳

ネパールには低地から山岳地帯までのさまざまな環境にアッサムモンキー (*Macaca assamensis*)、アカゲザル (*M. mulatta*)、グレイラングール (*Semnopithecus entellus*; 別名ハヌマンラングール) が広く分布する。しかし、その分類、分布、地域分化に関する体系的な遺伝学調査は皆無に等しい。そこで、本研究ではインド東北部ヒマラヤ山岳地帯で報告された新種アルナーチャルマカク *M. munzala* との関係が問題視されるアッサムモンキーと、亜種分類で論争が続くグレイラングールを対象に、糞試料からの DNA 分析法を検討した。

糞分析法を試験するため、ネパール国内の生息地 3 地点で採取したアッサムモンキーの試料 11 検体を材料に、DNA 抽出法、mtDNA 塩基配列の解読法を検討した。また、グレイラングールの糞試料についても同様の方法で分析が可能か試験した。この結果、アッサムモンキーでは安定して配列データを得る実験条件が確立でき、非コード領域の第 1 可変域約 580 塩基、ならびに 16S rRNA コード領域の約 400 塩基が解読できた。そこで、他地域のアッサムモンキーや *sinica* 種グループに属する別種と比較し、予備的に分子系統を解析した。この結果、調査したネパールの試料はブータンのアッサムモンキー (*M. a. pelops*) やアルナーチャルマカクとクラスターを作り、インドシナを中心に分布するアッサムモンキーの別亜種 *M. a. assamensis* と区別できた。一方、グレイラングールの分析では、PCR の際のプライマーが不適で改良の必要が判明した。

B-45 RNA を基点とした霊長類のエピジェネティクス

今村拓也 (京都大・院・理) 所内対応者: 大石高生

本課題は、ほ乳類脳のエピゲノム形成に関わる non-coding RNA (ncRNA) 制御メカニズムとその種間多様性を明らかにすることを目的としている。本年度は以下の 4 点について明らかにした: 1) ヒト、チンパンジー、マカクザル、マウス、ブタにおけるプロモーターへの偽遺伝子挿入頻度が種間で異なる (パイオインフォマティクス解析)、2) 固定した挿入配列からは RNA 転写がコード遺伝子に対しアンチセンス方向に起こる (前年度までのプロモーターアレイの結果をイルミナ社次世代シーケンシング解析により精度を高めて検定)、3) 挿入配列自体はプロモーター/エンハンサーとして、DNA メチル化した挿入配列はサイレンサーとして機能しうる (各種動物細胞レポーターアッセイ)、4) 挿入配列由来 promoter-associated ncRNA (pancRNA) と DNA グリコシラーゼの強制発現により、挿入配列を配列特異的に脱メチル化/遺伝子オンにできる (試験管内メチル化アッセイ)。以上より、偽遺伝子由来配列が遺伝子制御領域に種特異的に挿入されることで、種特異的 pancRNA が獲得され、配列特異的 DNA メチル化パターン形成を介して、種特異的遺伝子発現スイッチの獲得に至ることが考えられた。

<学会発表>

- 1) Imamura T, et al. (2011) Species-specific promoter-associated noncoding RNA mediates DNA demethylation in macaques. Society for Molecular Biology and Evolution 2011 (2011/07/27, Kyoto)
- 2) 上坂将弘, ほか (2011) マカクザルにおける偽遺伝子由来 promoter-associated noncoding RNA (pancRNA) による種特異的転写活性化. 第 104 回日本繁殖生物学会大会 (2011/09/16, 盛岡市)
- 3) 今村拓也, ほか (2011) マカクザルにおける偽遺伝子由来 promoter-associated noncoding RNA (pancRNA) による種特異的転写活性化. 第 152 回日本獣医学会大会 (2011/09/20, 堺市)
- 4) Uesaka M, et al. (2011) Species-specific pseudogene insertions generate cis-acting RNA for promoter demethylation in the macaque. 第 34 回日本分子生物学会年会 (2011/12/16, 横浜市)

B-46 ニホンザル集団およびアカゲザル集団からの運動学的データの収集

日暮泰男 (大阪大・院・人間科学) 所内対応者: 平崎鋭矢

研究の目的は霊長類の四足歩行時におけるフットフォール・パターン (1 歩行周期の中で、左右の前肢と後肢が支持基体に着く順番) に影響する要因を把握することであった。この目的で、京都大学霊長類研究所で集団飼育されているニホンザルとアカゲザルを対象に、場外の観察台から 2 種の四足歩行をビデオ撮影し、そのフットフォール・パターンを調べるとともに、支持基体の形状や傾斜、身体サイズ、他個体の運搬の有無と運搬方法といった他の変数との関連を分析した。放飼場によって場内の構造物が異なったこともあり、撮影した歩行の多くがニホンザルは地上でのもの、アカゲザルは樹上環境を模した構造物上でのものであった。先行研究のとおり、2 種のフットフォール・パターンは、後肢の次に対側の前肢が支持基体に着く前方交叉型がほとんどだった。後肢の次に同側の前肢が着く後方交叉型のパターンが 1 歩行周期つづいた例は今回は見られなかったが、下り傾斜の移動時、段差を乗り越える時、または移動を止める直前などにこのパターンを部分的にふくむ歩行が観察されること